

ENDOKARDITIS-THERAPIE MIT HOCHDOSIERTEM  
DOXYCYCLIN ORAL

Tierexperimentelle Studie

vorgelegt von

Horst Till

München

1980



Aus der Kinderklinik der Universität München

Direktor : Prof. Dr. med. K. Betke

ENDOKARDITIS - THERAPIE MIT HOCHDOSIERTEM  
DOXYCYCLIN ORAL

Tierexperimentelle Studie

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Medizin  
an der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Horst Till

München  
1980



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. med. W. Marget

Mitberichterstatter : Prof. Dr. med. K. Betke

Dekan : Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 31. Juli 1980



# Endokarditis-Therapie mit hochdosiertem Doxycyclin oral

## Teil I: Tierexperimentelle Studie

H. Till, W. Marget

In einem tierexperimentellen Test wurde die Möglichkeit einer oralen Behandlung der Staphylokokken-Endokarditis mit hohen Dosen Doxycyclin untersucht.

### Methode

Vor Versuchsbeginn wurden von 32 getesteten Kaninchen (männliche weiße Neuseeländer, 2 kg) Blutproben entnommen und bakteriologisch untersucht. Diese Kontrolluntersuchungen waren in allen Fällen negativ.

**Abakterielle thrombotische Endokarditis.** Die abakterielle thrombotische Endokarditis wurde dem Prinzip nach mit der Methode nach Garrison u. Freedman (1970) hervorgerufen.

Die Narkose erfolgte mit 1 ml/kg Propanidid (Epontol®, Hersteller: Fa. Bayer) über die Ohrrendvene, bei Bedarf wurde während des Eingriffs nachgespritzt. Nach einer Hautinzision am Hals wurde die rechte V. jugularis freipräpariert und mit OO-Seide unterbunden. Danach wurde unter streng sterilen Bedingungen die Vene kaudal der Ligatur eröffnet und ein Polyäthylenkatheter (Ernährungs-sonde Braun Melsungen Ø 1,0 × 1,5 mm, Länge 38 cm) bis in den rechten Ventrikel vorgeschoben. Die richtige Lage der Katheterspitze ergab sich aus dem deutlichen Widerstand und der pulsierenden Blutsäule im Katheter. Der liegende Katheter wurde ebenfalls mit OO-Seide fixiert, das Katheterende abgeknickt, durch Hitze verschweißt und nach Vernähen der Hautwunde subkutan belassen. Bei keinem der Versuchstiere kam es zu lokalen Entzündungen oder Wundheilungsstörungen. Am 2. und 4. Tag nach dem Eingriff angelegte Blutkulturen waren alle negativ, die Tiere zeigten keinerlei Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.

**Bakterielle Endokarditis.** 7 Tage nach dem Eingriff bekamen 25 Tiere je 1 ml einer Suspension einer 24 Stunden alten, gewaschenen Staphylococcus aureus-Kolonie i. v. injiziert (1 ml Suspension  $\approx 10^5$  Organismen). Der Erreger stammte von einem Kind mit Staphylokokken-Endokarditis und war empfindlich gegen Doxycyclin (MIC = 0,5 mcg/ml, MBC = 3,0 mcg/ml). Vor Versuchsbeginn erfolgte aus Kontrollgründen eine Phagentypisierung. 5 Tiere verendeten innerhalb von 24 Stunden. Die bakteriologischen Untersuchungen des Blutes sowie die Abklatschpräparate von Endokard und Katheterspitze waren positiv. Alle überlebenden Tiere zeigten 24 Stunden nach der Injektion klinische Zeichen einer Infektion (Fieber, Hyperventilation, Tachykardie, Verweigerung von Futter und Wasser), die Blutkulturen waren positiv.

**Therapie mit einem Doxycyclin-Saft-Präparat.** Die 20 erkrankten Tiere erhielten 24 Stunden nach der Staphylokokken-Injektion ebenso wie die 4 Kontrolltiere mit Katheter aber ohne Infektion, je 4 ml eines Doxycyclin-Saft-Präparates (Vibramycin®-Saft, Hersteller: Fa. Pfizer) ( $\approx 20$  mg Doxycyclin/kg) mittels einer Schlundsonde (Rüsch-Katheter Nr. 12) verabreicht. Die erkrankten Tiere zeigten nach weiteren 24 Stunden deutliche Zeichen der Besserung.

**Probengewinnung.** Die 20 inokulierten und behandelten Tiere wurden in 5 Gruppen zu je 4 Tieren eingeteilt und die einzelnen Gruppen nach 2 bis 6maliger Behandlung jeweils 3 Stunden nach der letzten Applikation des Doxycyclin-Saft-Präparates durch elektrischen Strom getötet. Die Tötung der nicht infizierten Tiere erfolgte am 5. Behandlungstag.

Unter sterilen Bedingungen wurde das Herz und die A. abdominalis freipräpariert. Die Blutgewinnung erfolgte aus der A. abdominalis, das Herz wurde entnommen, eröffnet und mit sterilem Filterpapier vorsichtig abgetrocknet. Die Kontrolle der Katheterspitzen ergab, daß alle im rechten Ventrikel lagen.

Nach einem Abklatsch von Endokard und AV-Klappen auf Trypticase Soy Agar (DIFCO) und dem Abzentrifugieren der geformten Blutbestandteile wurden Herzen und Serum bei  $-28^\circ\text{C}$  tiefgefroren. Aus dem Blut sowie von Katheterspitzen und Endokard konnte ausschließlich Staphylococcus aureus isoliert werden. Die anschließende Phagentypisierung bewies die Identität mit dem inokulierten Erreger.

Die makroskopische Untersuchung der Herzen der 7 katheterisierten Kontrolltiere (davon 3 ohne Antibiotika-Behandlung) ergab mehr oder minder stark ausgeprägte thrombotische Auflagerungen auf den AV-Klappen des rechten Herzens.

**Bestimmungsmethode.** Antibiotic Medium Nr. 2 (OXOID) wurde bei 50 bis  $60^\circ\text{C}$  mit Bac. subt. ATCC 6633 beimpft und in ebene NUNC-Bio assay plates No. 1015 gegossen. Nach dem Erkalten wurden mit einem sterilen Korkbohrer 36 Löcher pro Platte ausgestanzt und mit jeweils 30 mcg der Eichlösung bzw. des Untersuchungsmaterials (Serum oder Myokardextrakt) gefüllt. Je Platte wurden 3 Proben und 3 Standardverdünnungsreihen nach der „Latin Square“-Verteilung aufgetragen.

Zur Gewinnung des Myokard-Extraktes wurde das Gewebe gewogen, aufgetaut und mit der 3fachen Menge seines Gewichtes mit Phosphatpuffer, pH 4,5 in einem Homogenisator (Potter S, Hersteller: Fa. Braun, Melsungen) zerkleinert. Als Testsubstanz für die Erstellung der Standard-Lösungen diente Doxycycline Hyclate, Aktivität 866 mcg/mg (Hersteller: Fa. Pfizer, Chargenr. 00368 - 58 EA). Für die Erstellung der Eichkurven wurden Verdünnungsreihen dieser Substanz in Phosphatpuffer für die Gewebsspiegel-Bestimmung und in Rinderserum-Phosphatpuffer (1:1) für die Serumspiegel-Bestimmung hergestellt (Adam u. Mitarb. 1977). Die Konzentrationen betrugen 0,31; 0,62; 1,25; 2,5; 5,0 und 10,0 mcg/ml. Nach 18 Stunden Bebrütung bei  $37^\circ\text{C}$  wurde der Durchmesser der Hemmhöfe mit dem Leebrook Mikrobiological Zone Reader (Hersteller: Fa. Leebrook, Winchester/Hampshire) gemessen und mit Hilfe von Eichkurven die Konzentration von Doxycyclin im Serum und im Myokard bestimmt.

Cand. med. H. Till, Prof. Dr. med. W. Marget, Abteilung für antimikrobielle Therapie und Infektionsimmunologie an der Kinderklinik im Dr. v. Haunerschen Kinderspital (Direktor: Prof. Dr. med. K. Betke) der Universität, Lindwurmstraße 4, D-8000 München 2.

## Ergebnisse

Tabelle 1: Inokulierte Tiere (VQ = Verteilungsquotient)

| Behandlungsdauer | Tier Nr. | Serum-Konzentration | Myokard-Konzentration | VQ $\frac{\text{Myokard}}{\text{Serum}}$ |
|------------------|----------|---------------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 2 Tage           | 14       | 1,62 mcg/g          | 5,94 mcg/g            | 3,67                                     |
|                  | 22       | 0,63 mcg/g          | 1,97 mcg/g            | 3,13                                     |
|                  | 24       | 0,84 mcg/g          | 1,75 mcg/g            | 2,08                                     |
|                  | 31       | 0,70 mcg/g          | 1,59 mcg/g            | 2,27                                     |
| 3 Tage           | 16       | 1,54 mcg/g          | 2,32 mcg/g            | 1,51                                     |
|                  | 19       | 0,60 mcg/g          | 1,85 mcg/g            | 3,08                                     |
|                  | 21       | 1,30 mcg/g          | 2,95 mcg/g            | 2,27                                     |
|                  | 23       | 2,48 mcg/g          | 3,08 mcg/g            | 1,24                                     |
| 4 Tage           | 20       | 1,95 mcg/g          | 6,19 mcg/g            | 3,17                                     |
|                  | 25       | 0,61 mcg/g          | 2,20 mcg/g            | 3,61                                     |
|                  | 26       | 0,37 mcg/g          | 0,93 mcg/g            | 2,51                                     |
|                  | 27       | 0,40 mcg/g          | 1,05 mcg/g            | 2,63                                     |
| 5 Tage           | 9        | 1,45 mcg/g          | 3,15 mcg/g            | 2,17                                     |
|                  | 12       | 1,98 mcg/g          | 4,55 mcg/g            | 2,29                                     |
|                  | 28       | 0,50 mcg/g          | 1,15 mcg/g            | 2,30                                     |
|                  | 29       | 1,12 mcg/g          | 2,70 mcg/g            | 2,41                                     |
| 6 Tage           | 5        | 0,50 mcg/g          | 1,53 mcg/g            | 3,06                                     |
|                  | 30       | 0,32 mcg/g          | 0,85 mcg/g            | 2,66                                     |
|                  | 32       | 2,08 mcg/g          | 3,55 mcg/g            | 1,71                                     |
|                  | 33       | 0,55 mcg/g          | 2,00 mcg/g            | 3,64                                     |

Tabelle 2: Kontrolltiere ohne Infektion

| Behandlungsdauer | Tier Nr. | Serum-Konzentration | Myokard-Konzentration | VQ $\frac{\text{Myokard}}{\text{Serum}}$ |
|------------------|----------|---------------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 5 Tage           | 7        | 0,31 mcg/g          | 0,80 mcg/g            | 2,58                                     |
|                  | 34       | 0,45 mcg/g          | 1,35 mcg/g            | 3,00                                     |
|                  | 35       | 0,50 mcg/g          | 1,70 mcg/g            | 3,40                                     |
|                  | 36       | 0,52 mcg/g          | 1,97 mcg/g            | 3,79                                     |

## Diskussion

Im Gegensatz zur bestehenden Meinung (Kaye 1978 und Lüthy u. Mitarb. 1974, 1975), nach der zur Behandlung einer bakteriellen Endokarditis grundsätzlich bakterizid wirkende Antibiotika erforderlich seien, konnte in dem beschriebenen Versuch nachgewiesen werden, daß die Verwendung eines bakteriostatisch wirkenden Doxycyclin-Präparates ebenfalls zu positiven Ergebnissen führt. Die nach der oralen Applikation des Antibiotikums erzielten Ergebnisse sind durchaus mit solchen nach parenteraler Anwendung vergleichbar.

Wie weit das verwandte Präparat nicht nur bakteriostatisch, sondern auch degenerativ oder in der verabreichten hohen Dosis bakterizid wirksam ist, wurde in dieser Studie nicht untersucht. Die Frage, welchen Einfluß die Myokard-Konzentration eines Antibiotikums auf die Therapie der bakteriellen Endokarditis hat, kann noch nicht endgültig beantwortet werden und bedarf weiterer experimenteller Untersuchungen.

Es kann angenommen werden, daß die unterschiedlich hohen Konzentrationen, selbst in der gleichen Versuchsgruppe, auf die individuellen Schwankungen in der Resorption nach oraler Applikation zurückzuführen sind. Ein weiterer Grund kann in der Tatsache gesehen werden, daß Tetrazykline mit Metallionen, vorwiegend mit zwei- und dreiwertigen Kationen, inaktive Chelate bilden. Der Anteil des an Kalziumionen gebundenen und damit inaktivierten Doxycyclins nach oraler Verabreichung wird mit 19 bis 22% beschrieben (Otten u. Mitarb. 1975).

Aufgrund der Futtermittelanalyse des verwandten Trockenpreßfutters kann von einer täglichen Kalziumaufnahme von bis zu 3 g, je nach Fressgewohnheit des Versuchstieres, ausgegangen werden. Daraus ergibt sich, daß zur Beurteilung der erreichten antimikrobiotisch wirksamen Konzentrationen zusätzlich der Quotient aus Gewebe- und Serumkonzentration herangezogen werden muß.

Eine verminderte individuelle Resorptionsquote ergibt eine niedrige Serumkonzentration und dadurch eine niedrige Gewebekonzentration des Antibiotikums. Der Verteilungsquotient (VQ) war in allen Fällen > 1 (1,24 bis 3,79).

Die vorliegenden Fakten sind die Ergebnisse tierexperimenteller Untersuchungen, die nicht kritiklos in die Humanmedizin übernommen werden können. Vergleichende Untersuchungen mit anderen Geweben bei Tier und Mensch lassen jedoch die Vermutung zu, daß sich Doxycyclin bei beiden Spezies in den einzelnen Organen in vergleichbarer Konzentration anreichert (Blanchard u. Mitarb. 1975, Fabre u. Mitarb. 1971).

Die erreichten Serum- und Gewebespiegel berechtigen, beim Vorliegen entsprechend empfindlicher Erreger eine orale Therapie der bakteriellen Endokarditis beim Menschen zu empfehlen. Erste klinische Erfolge mit Dosen von 15 bis 20 mg/kg bei schwerst erkrankten Kindern, deren Zustand eine i. v. oder i. m. Applikation des Antibiotikums nicht mehr erlaubte, scheinen dies zu bestätigen (Marget u. Bühlmeier 1975).

Dokumentation: D3 - C1, C8 Doxycyclin - Endokarditis, bakterielle

## Literatur

- Adam, D. u. Mitarb.: Fortschr. Ther. 95 (1977) 2107-2109.
- Blanchard, M., Rudhardt, M., Fabre, J.: Behaviour of doxycycline in the tissues. Chemotherapy 21, Suppl. 1 (1975) 8-18.
- Fabre, J. u. Mitarb.: La cinétique des tétracyclines chez l'homme. Schweiz. med. Wschr. 101 (1971) 593-598, 625-633.
- Garrison, P. K., Freedman, L. R.: Yale J. Biol. Med. 42 (1970) 394-410.
- Kaye, D.: Infective endocarditis: Therapy. In: Current Chemotherapy - Proceeding of the 10<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy, Volume I. Hrsg. Siegenthaler, W., Lüthy, R. p 70. American Society for Microbiology, Washington, D. C. 1978.
- Lüthy, R. u. Mitarb.: Dtsch. Ärztebl. 71 (1974) 1081-1086.
- Lüthy, R. u. Mitarb.: Schweiz. med. Wschr. 105 (1975) 1433-1438.
- Marget, W., Bühlmeier, K.: Use of high-dosage oral doxycycline in endocarditis. 9<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy. Abstract M - 515, London 1975.
- Otten, H., Plempel, M., Siegenthaler, W.: Hrsg.: Antibiotika-Fibel. S. 345-361. Thieme, Stuttgart.

## LEBENS LAUF

Ich wurde am 22. Mai 1941 als einziges Kind des Straßenmeisters Franz Till und seiner Ehefrau Erna, geborene Lausch in Leitmeritz / CSSR geboren.

Mein Vater fiel 1944 an der Ostfront.

1945 zogen wir nach der Aussiedlung aus der Tschechoslowakei nach Hof / Saale, wo ich ab 1947 die Volksschule besuchte.

1956 begann ich eine Lehre als Drogist, die ich 1959 mit dem Gehilfenbrief als Drogist und Einzelhandelskaufmann abschloß. Bis zu meinem Eintritt in die Bundeswehr arbeitete ich 2 Jahre in einem pharmazeutischen Betrieb.

Während meiner zwölfjährigen Dienstzeit bei der Bundeswehr legte ich das Krankenpfleger-Examen ab und war 8 Jahre in einem Veterinär-Labor in München als Laborant in der Lebensmittelüberwachung tätig.

Ab 1966 besuchte ich die Städtische Abendrealschule für Berufstätige, wo ich 1969 die mittlere Reife erlangte. Nach zwei weiteren Jahren an dieser Schule legte ich 1971 am Bayerischen Staatsministerium für Unterricht und Kultus die Begabtensonderprüfung ab.

Zum Wintersemester 1972/73 begann ich das Studium der Medizin an der Universität München, das ich 1979 mit der 3. ärztlichen Prüfung abschloß.

Seit Dezember 1979 bin ich als Assistenzarzt in der Abteilung für Anästhesie und operative Intensivmedizin beim Krankenhauszweckverband Augsburg tätig.





